

Aus dem Institut für gerichtliche Medizin und Kriminalistik der Universität
Erlangen-Nürnberg Direktor: Prof. Dr. Dr. E. Weinig

Elektrophoretische Untersuchungen von Hämoglobin-Derivaten

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

Vorgelegt von
Egon J. Heinrich
aus Schwarzenbach/W.

1962

Dekan: Prof. Dr. A. Windorfer

Referent: Prof. Dr. Dr. E. Weinig

Tag der mündlichen Prüfung: 22. Oktober 1962

W. Schwerd und E. Heinrich

Elektrophoretische Untersuchungen von Hämoglobin-Derivaten

AUS »BEITRÄGE ZUR GERICHTLICHEN MEDIZIN«, BAND XXII

Herausgeber: L. Breitenecker, Wien

VERLAG FRANZ DEUTICKE, WIEN

DRUCK: FERDINAND BERGER, HORN, NÖ.



Aus dem Institut für gerichtliche Medizin und Kriminalistik
der Universität Erlangen-Nürnberg
(Direktor: Prof. Dr. Dr. E. Weinig)

Elektrophoretische Untersuchungen von Hämoglobin-Derivaten

Von W. Schwerd und E. Heinrich

Durch elektrophoretische Untersuchungen konnten Kunkel und Wallenius 1955 erstmals nachweisen, daß das normale Erwachsenenhämoglobin (Hb-A) keine einheitliche Substanz ist, sondern in drei Komponenten aufgetrennt werden kann. Die Hauptfraktion wurde mit Hb-A₁ bezeichnet. Sie läuft elektrophoretisch auf Höhe des β -Globulins des Serums. Die beiden anderen Komponenten treten normalerweise mengenmäßig stark zurück. Es handelt sich um eine Fraktion, die beim gesunden Erwachsenen etwa 1,5 bis 3% ausmacht und im elektrischen Feld erheblich langsamer als die Hauptfraktion wandert. Diese Fraktion wird als Hb-A₂ bezeichnet. Sie tritt vermehrt bei der sogenannten Thalassämia minor, der heterozygoten Form einer erblichen Hämoglobinbildungsstörung, auf. Die 3. Fraktion des normalen Hämoglobins wird Hb-A₀ genannt und läuft etwas schneller als die Hauptfraktion. Diese Differenzierungen von Hb-A haben nichts mit dem ABO-System der Blutgruppen zu tun, sondern hängen mit der allgemein eingebürgerten Bezeichnung des Erwachsenen-Hämoglobins mit der Abkürzung Hb-A (Adult Haemoglobin) zusammen.

Länger bekannt als diese physiologischen Varianten des Hämoglobins sind die anomalen Hämoglobine, die ebenfalls zum großen Teil in ihrer elektrophoretischen Beweglichkeit von der des normalen Hämoglobins abweichen. Der erste Typ dieser Art wurde in dem Hb-S (Sichelzell-Hämoglobin) durch Pauling und Mitarbeiter 1949 gefunden. Seitdem hat man schon über 20 anomale Varianten des Hb entdeckt.

Zu der Frage, ob die Hämoglobin-Derivate eine unterschiedliche elektrophoretische Beweglichkeit aufweisen, wurden bisher nur wenige Untersuchungen durchgeführt. Durch Befunde von Reich ist bekannt, daß das Hämatin mit der Serumalbuminfraktion, in geringen Mengen auch mit der α_2 -Globulinfraktion läuft. Zu ähnlichen Ergebnissen gelangten Miller und Alling sowie Fišer-Herman und Davorin. Neuerdings wurden hämbindende Proteine auch in der β -Globulinfraktion des Serums nachgewiesen (Schwerd 1958, Nyman 1960, Aber und Rowe, 1960). Hiervon zu unterscheiden sind die hämoglobinbindenden Proteine, die Haptoglobine, die nicht mit Häm und Hämatin reagieren (Nyman).

Eingehendere Untersuchungen zur Frage des elektrophoretischen Verhaltens von Hb-Derivaten wurden von Palmieri und Romano (1957) durchgeführt. Sie stellten fest, daß das Methämoglobin bei der Papierelektrophorese (Whatman-Papier Nr. 1, Veronalpuffer pH 8,6, 145 V, Laufzeit 14 Std.) in 2 Fraktionen wanderte, von denen die eine schneller, die andere langsamer als

Hämoglobin war. Sulfhämoglobin (Verdoglobins) lief langsamer, Choleglobin (Verdoglobin_A) dagegen schneller als das Hämoglobin. Bei Versuchen mit Leichengewebsextrakten fanden sie fast regelmäßig Choleglobin und Sulfhämoglobin neben Hämoglobin und Methämoglobin, doch sind die von ihnen in Form von Diagrammen dargestellten Ergebnisse nicht immer ganz eindeutig.

Weitere Versuche mit Hämoglobinderivaten stammen von Pollak und Mitarbeitern, die sich mit Cyan-, Stickoxyd-, Kohlenoxyd-, Kohlendioxyd-, Sulfmet- und Methämoglobin befaßten. Nach der Art der von ihnen mitgeteilten Herstellung der Hämoglobinderivate dürfte es sich jedoch, außer beim Kohlenoxyd-Hb nicht oder nur in geringem Maße um die gewünschten Substanzen gehandelt haben. So wurde beispielsweise versucht, Cyanhämoglobin dadurch herzustellen, daß frisch bereitete Blausäure durch eine Blutprobe durchgeleitet wurde. Hierbei kann man jedoch erfahrungsgemäß die sehr unbeständige, umstrittene und zum Unterschied von Cyan-Met-Hb praktisch bedeutungslose Verbindung Cyanhämoglobin nicht in ausreichendem Maße erhalten. Noch viel weniger dürfte es den Autoren gelungen sein, mit Stickoxydul (N_2O) aus Gasflaschen zu Anaesthesiezwecken Stickoxyd-(NO)-Hb herzustellen. Die Autoren teilen folgende Ergebnisse mit: Cyanhämoglobin laufe etwas langsamer als Hämoglobin, ebenso Stickoxydhämoglobin. CO-Hb sei zum Teil langsamer, zum Teil gleich schnell wie Hb gelaufen. Die Versuche mit Kohlendioxydhämoglobin seien unterschiedlich ausgefallen. Bei Sulfmethämoglobin sei in 4 von 10 Fällen eine Verlangsamung, in 2 keine Veränderung und in 4 Fällen eine Beschleunigung festzustellen gewesen, Methämoglobin habe meist dasselbe Verhalten wie Hämoglobin gezeigt.

Eigene Untersuchungen

Wir führten elektrophoretische Versuche mit Whatman-Papier Nr. 1, Acetatfolie (Schleicher und Schüll), Stärkeblock (aus Mondamin) und Stärkegel (aus Kartoffelstärke) durch. Dabei verwendeten wir das Elphor-H-Gerät (Bender und Hobein) und nahmen bei den Versuchen mit Stärkeblock und -gel Kunststoffschalen, die in die Elektrophoresekammern eingesetzt wurden. Als Puffer diente ein Veronal-Natriumacetat-Puffer pH 8,6 (nach Michaelis) mit einer Ionenstärke von 0,1.

Die Papierstreifen bzw. Acetatfolien wurden teils mit Amidoschwarz, teils mit Benzidin oder Dianisidin in der üblichen Weise gefärbt. Bei Stärkeblock und Stärkegel wurde die Anfärbung durch Aufsprühen des Reagens bzw. durch Bestreichen mit dem Reagens unter Zwischenschaltung eines Filtrierpapiers durchgeführt. Bei den Papierstreifen wurden Spannungen (U) von 110 und 145 Volt, bei den Acetatfolien von 350 und 400 V, bei Stärkeblock und Stärkegel Spannungen von 110, 200 und 350 V angelegt. Die Laufzeiten sind weiter unten angegeben. Die Versuche wurden größtenteils im Kühlschrank bei 3–5° C, vereinzelt bei Zimmertemperatur, vorgenommen.

Die Hämoglobinlösung als Ausgangssubstanz für die Hb-Derivate stellten wir aus frischem Citratblut durch mehrmaliges Waschen der Erythrozyten mit physiologischer Kochsalzlösung nach Abtrennung des Plasmas und unter jeweiligem Abzentrifugieren der Blutkörperchen bei 2200 Umdrehungen/Min. her. Die gewaschenen Erythrozyten wurden mit destilliertem Wasser hämolytisiert und die Stromata durch Zentrifugieren bei 3000 Umdrehungen/Min. entfernt.

Bei den Versuchen auf Papier und Acetatfolie wurde festgestellt, daß das O_2Hb auf Höhe der β -Fraktion der Serumglobuline lief. Bei Verwendung von

geringen Hb-Mengen (0,004 ml einer 2%igen Lösung) war nur eine Fraktion nachzuweisen. Wurde dieselbe Hb-Menge zusammen mit Serum angesetzt, so war noch eine zweite Fraktion zu finden, die zwischen den α - und β -Globulinen lag (Haptoglobin).

Größere Hb-Mengen (0,02 ml 4–8%ige Hb-Lösung pro Versuch streifenförmig in einer Breite von 4 cm aufgetragen) ergaben bei der Elektrophorese ohne Serum eine deutliche Abtrennung einer langsamer laufenden Fraktion (Hb-A₂), wenn der Stärkeblock verwendet wurde. Die Laufzeit betrug unter den Bedingungen: $U = 200$ V, Laufzeit 22 Std., $\mu = 0,1$, 5° C für die A₂-Fraktion 41 mm, für die Hauptfraktion 62 mm und daran anschließend befand sich ohne scharfe Trennung bei 66–67 mm angedeutet noch eine weitere Fraktion, bei der es sich wohl um das Hb-A₀ handelte.

Die Hb-Derivate wurden folgendermaßen hergestellt:

1. CO-Hb: Durchströmen von 2 ml einer 2–4%igen Hb-Lösung in Aqua dest. im Kolben nach Wehrli mit CO aus der Stahlflasche für 4 Min. bei raschem Gasstrom. Die CO-Hb-Sättigung wurde spektrophotometrisch kontrolliert.

2. Met-Hb: 1 ml-Hb-Lösung (4–8%) + 1 ml Kaliumferricyanid (1%), Einwirkungszeit 15 Min. Der Met-Hb-Gehalt wurde spektrophotometrisch kontrolliert.

3. Fluor-Met-Hb: wie bei Met-Hb, dazu 15 mg Natriumfluorid.

4. Cyan-Met-Hb: wie Met-Hb, anschließend Durchleiten von frisch hergestellter Blausäure.

5. Nitrit-Met-Hb: 1 ml Hb-Lösung (4–8%) + 1 ml 10%ige NaNO₂-Lösung. Einwirkungszeit $\frac{1}{2}$ Stunde.

6. NO-Hb: wie 5., jedoch Reduktion mit Natrium-dithionit kurz vor dem Versuch.

7. Verdiglobin_{CN}: Herstellung nach Kiese. 200 ml 10%ige Hb-Lösung wurden in eine Lösung von 20 g KCN in 200 ml 10%iger Essigsäure gebracht, unter Rühren 30 ml Perhydrol zugesetzt und das Gefäß leicht verschlossen. Nach 4 Stunden Stehen bei Zimmertemperatur wurde die Lösung 4 Tage in Cellophanschläuchen gegen fließendes Wasser und anschließend im Eisschrank gegen dest. Wasser dialysiert. Während dabei ein großer Teil des Proteins als grüner Niederschlag ausfiel, blieb Verdiglobin in Lösung. Spektrophotometrisch war nur noch wenig Hb nachweisbar.

8. Verdoglobina (Choleglobin): Herstellung nach Lemberg. Zu 30 ml einer 1,2%igen Hb-Lösung wurden 20 ml Phosphatpuffer (pH 6,8) und 50 mg krist. Ascorbinsäure, dann 1 Tropfen Perhydrol zugesetzt. Nach $4\frac{1}{2}$ stündigem Stehen bei 37° C im Wasserbad bildete sich ein grüner Niederschlag. Jetzt wurde zentrifugiert und die überstehende grünbraune Flüssigkeit abgessogen. Der Niederschlag löste sich jedoch, entgegen den Angaben bei Palmieri und Romano, in einigen ml Boratpuffer pH 10 nach Sörensen und Clark nicht auf. Die abgessogene Flüssigkeit war nach ihrem spektrophotometrischen Verhalten teilweise in Verdoglobin übergegangen, z. T. noch hämoglobinhaltig.

9. Verdoglobins (Sulf-Hb): Herstellung nach Lemberg.

In eine wäßrige, 1%ige Hb-Lösung wurde 12 Std. lang H₂S und O₂ eingeleitet. Die Flüssigkeit wurde intensiv grün. Anschließend wurde 48 Std. Luft mittels einer Wasserstrahlpumpe, die in dem die Flüssigkeit enthaltenden Erlenmeyer-Kolben einen Unterdruck erzeugte, durchgeleitet. Dadurch wurde der überschüssige Schwefelwasserstoff eliminiert. Spektrophotometrisch konnte ein beträchtlicher Verdoglobins-Gehalt nachgewiesen werden.

Versuchsergebnisse

1. Whatman Papier Nr. 1:

a) 110 V, 14 Std., $\mu = 0,1$, 5°C , 0,0015 ml Hb-Derivat-Lsg., punktförmig aufgetragen, als Vergleich jeweils O_2 -Hb-Lösung. Gemessen wurde als Laufstrecke der Abstand: Start bis Mittelpunkt des Fleckens. Die Versuche wurden (auch mit Acetatfolie und Stärkeblock) mindestens $3\times$, meist $5\times$ oder öfter durchgeführt.

O_2 - und CO-Hb liefen anodisch im Mittel 53 mm weit, Cyan-Met-Hb im Durchschnitt 5% weiter, Met-Hb, F-Met-Hb, Nitrit-Met-Hb und NO-Hb 3% kürzer.

b) 145 V, 14 Std., $\mu = 0,1$, 5°C .

O_2 -Hb: Laufstrecke im Mittel 62 mm,

Met-Hb: 1–2% kürzer,

Sulf-Hb (Verdoglobins): 6% länger,

Choleglobin (Verdoglobin_A): 11% länger.

Wiederholung nach 4 Wochen mit den gleichen bis dahin im Kühlschrank aufbewahrten Verdoglobinlösungen (Vergleich frische O_2 Hb-Lsg.):

Sulf-Hb: 8%, Choleglobin: 17% längere Laufstrecke.

2. Acetatfolie:

a) 350 V, 2,5 Std. bzw. 400 V, 1,75 und 2 Std. $\mu = 0,033$, 5°C : 0,0015 ml Hb-Derivat-Lsg. punktförmig aufgetragen, O_2 -Hb und CO-Hb: Laufstrecke im Mittel 44 mm. Cyan-Met-Hb lief im Mittel 5,7% schneller, Met-Hb, F-Met-Hb und Nitrit-Met-Hb 2,5–3,5%, NO-Hb 4,5% langsamer.

b) 400 V, 2 Std. $\mu = 0,033$, 5°C .

O_2 -Hb: Laufstrecke im Mittel 42 mm.

Sulf-Hb 11,5%,

Choleglobin 14%,

Verdiglobin_{CN} 10% längere Laufstrecke.

3. Stärkeblock:

200 V, 24 Std., $\mu = 0,1$, 5°C .

0,005 ml Lsg. wurden auf einem 10 cm breiten Block strichförmig aufgetragen, höchstens 3 Substanzen nebeneinander. Vergleich: O_2 -Hb-Lsg.

O_2 -Hb: Durchschnittliche Laufstrecke Hauptfraktion, Hb-A₁: 62 mm, A₂-Fraktion: 41 mm.

Im Vergleich zur Hauptfraktion wurden folgende Laufstrecken festgestellt: Met-Hb, F-Met-Hb und Nitrit-Met-Hb durchschnittlich 15% kürzer, NO-Hb 5% kürzer, Cyan-Met-Hb 6% länger. CO-Hb hatte die gleiche Laufstrecke wie O_2 -Hb. Bei Wiederholungsversuchen, bei denen unter sonst gleichen Bedingungen Hb-Derivate verwendet wurden, die statt aus Hb-Lösungen aus Blutlösungen hergestellt wurden, ergab sich im wesentlichen dasselbe Verhalten. Lediglich das Cyan-Met-Hb lief nicht immer schneller als O_2 Hb, sondern hatte mitunter die gleiche Laufstrecke.

Sulf-Hb hatte eine um 22–25%, Choleglobin eine um 40–55% längere Laufstrecke im Stärkeblock als O_2 -Hb. Hämatinalbumin (Methämalbumin) lief mehr als doppelt so weit.

Mit Stärkegel (unter den Bedingungen wie sie bei der Haptoglobinbestimmung (vgl. Bundschuh) üblich sind) wurden nur orientierende Versuche durchgeführt. Die Trennung war nicht ganz so deutlich wie im Stärkeblock, doch zeichneten sich im großen und ganzen die gleichen Verhältnisse ab: Met-Hb lief meist etwas langsamer als O_2 -Hb, Cyan-Met-Hb gleichschnell

oder etwas schneller, Verdiglobin_{CN} und Verdoglobins (Sulf-Hb) hatten deutlich längere Laufstrecken. Sie waren aber meist nicht gut abgegrenzt. Hämatinalbumin wanderte am weitesten, während freies Hämatin nur eine kurze Strecke lief.

Diskussion

Unsere Versuche zur elektrophoretischen Trennung von Hb-Derivaten ergaben, daß deren Beweglichkeit im elektrischen Feld unterschiedlich ist. Die beste Trennung ist im Stärkeblock zu erreichen, gut ist sie auch auf Acetatfolie, während auf Papier und in Stärkegel die Unterschiede wesentlich weniger deutlich in Erscheinung treten. Met-Hb und seine Derivate Fluor-Met-Hb sowie Nitrit-Met-Hb wanderten langsamer, in geringerem Maße auch NO-Hb, während Cyan-Met-Hb gleichweit, meist sogar etwas schneller als O₂-Hb lief.

CO-Hb hatte immer die gleiche Laufstrecke wie O₂-Hb. Versuche mit reduziertem Hb ergaben keine sichere Abweichung von O₂-Hb, wobei zu bedenken ist, daß (da der Sauerstoffzutritt in den Elektrophoresekammern nicht völlig zu unterbinden war) eine Reoxygenierung zum O₂-Hb stattgefunden haben konnte. Auch beim NO-Hb muß man daran denken, daß es während der Versuchsdauer wieder ins Nitrit-Met-Hb übergegangen ist, denn es verändert sich leicht durch bloßes Stehenlassen an der Luft (Schwerd und Stumpf). Weitere elektrophoretische Versuche unter Sauerstoffabschluß sind hier noch erforderlich.

Die Beobachtung von Palmieri und Romano, daß die Wanderungsgeschwindigkeit des Met-Hb erheblich von der des O₂-Hb abweicht, konnten wir trotz gleicher Versuchsbedingungen nicht bestätigen. Diese Autoren fanden, daß Met-Hb in 2 Fraktionen läuft, von denen die eine ca. 55% langsamer, die andere mehr als 40% schneller als Hämoglobin ist. Bei unseren Versuchen wanderte Met-Hb dagegen auf Papier regelmäßig um etwa 3% langsamer als O₂-Hb. Eine Fraktionierung stellten wir nicht fest. Sie wäre zwar bei stufenweiser Oxydation denkbar und wurde auch von Itano und Robinson nachgewiesen. Die unvollständig oxydierten Fraktionen müßten aber dann hinsichtlich ihrer Laufgeschwindigkeit zwischen dem O₂-Hb und dem Met-Hb liegen. Vielleicht sind die unterschiedlichen Ergebnisse darauf zurückzuführen, daß die Autoren pulverisiertes Hämoglobin zur Herstellung der Hb-Derivate verwendeten, das erfahrungsgemäß erheblich denaturiert sein kann. Auch unsere Befunde mit Sulf-Hb und Choleglobin decken sich nicht mit denen von Palmieri und Romano. Wir fanden, daß alle Verdoglobine, die wir prüften (Typ A, CN und S), schneller wanderten als O₀-Hb, während die genannten Autoren feststellten, daß Sulf-Hb (= Verdoglobins) um etwa 14% langsamer, Choleglobin (= Verdoglobin_A) dagegen um etwa 28% schneller lief als Hämoglobin. Wir fanden auf Papier eine 6% (Sulf-Hb) bzw. 11% (Choleglobin) größere Laufstrecke.

Bei der unbekannten Substanz mit „maximaler anodischer Wanderung“, die Palmieri und Romano häufig in Leichengewebeextrakten feststellten, handelte es sich zweifellos um an Albumin gebundenes Hämatin, das bei der Fäulnis regelmäßig auftritt (Schwerd und Brandt).

Für das Studium der Blutfarbstoffveränderungen bei Fäulnis ist die Elektrophorese zweifellos die bisher beste und übersichtlichste Methode. Für die Erfassung von Met-Hb ist sie allerdings weniger geeignet als für den Nachweis von Verdoglobin und Hämatin, soweit letzteres an Albumin gebunden ist.

Am meisten zu empfehlen ist die Stärkeblockmethode, die zugleich den Vorteil hat, daß die aufgetrennten Bestandteile gut isoliert und eluiert werden können und dann zu weiteren Untersuchungen (z. B. zur Spektrophotometrie) zur Verfügung stehen.

Über Versuche mit faulem Blut und Organextrakten werden wir nach deren Abschluß berichten.

Zusammenfassung

Elektrophoretische Untersuchungen mit verschiedenen Methoden ergaben, daß einige Blutfarbstoffderivate damit differenzierbar sind. Besonders geeignet ist die Stärkeblockmethode. Am deutlichsten lassen sich Verdoglobine und Hämatinalbumin auf diese Weise von den anderen Blutfarbstoffderivaten abgrenzen.

Literatur

- Aber, G. M. and D. S. Rowe: The binding of haematin by serum proteins. *Brit. J. Haematol.* **6**, 160 (1960).
- Brandt, O.: Experimentelle Untersuchungen über das Auftreten von Hämatin in faulem Blut. Inaug.-Diss. Erlangen 1950.
- Bundschuh, G.: Über ein vereinfachtes Verfahren zur qualitativen Haptoglobinbestimmung aus menschlichen und tierischen Seren. *Dtsch. Gesundh. Wesen* **15**, 2103 (1960).
- Fišer-Herman, M. und P. Davorin: Papierelektrophorese des Hämatinalbumins. *Biochem. Z.* **324**, 96 (1953).
- Itano, H. A. and E. Robinson: Electrophoretic separation of intermediate compounds in two reactions of ferrihemoglobin. *Biochem. biophys. Acta* **29**, 545 (1958).
- Kiese, M.: Darstellung und Eigenschaften der Verdoglobine. *Arch. exper. Path. Pharmacol.* **204**, 385 (1947).
- Kunkel, H. G. und G. Wallenius: New hemoglobin in normal adult blood. *Science* **122**, 288 (1955).
- Lemberg, R.: Zit. nach Palmieri und Romano.
- Miller, L. and E. W. Alling: The effect of d l-Methionine, l-Cystine and d l-Isoleucine on the utilisation of parenterally administered dog hemoglobine. *J. exper. Med.* **85**, 56 (1947).
- Nyman, M.: On plasma proteins with heme or hemoglobin binding capacity. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* **12**, 121 (1960).
- Palmieri, V. M. und C. Romano: Die grünen Haemopigmente der Leiche. *Sci. med. ital.* **5**, 598 (1957).
- Pauling, L., H. A. Itano, S. J. Singer and J. C. Wells: Sick cell anemia, a molecular disease. *Science* **110**, 543 (1949).
- Pollak, O. J., E. R. Barug and G. W. Chubaty: Toxicologic study of chemically altered hemoglobins, and forensic study of blood stains by paper electrophoresis. *J. forensic. Med.* **5**, 200 (1958).
- Reich, M.: The electrophoretic mobility of haemoglobin and its derivatives and the effect of their addition to the serum in various animal species. *Austral. J. exp. biol.* **34**, 343 (1956).
- Schwerd, W.: 1. Die Bindung des Hämatins an Bluteiweißstoffe. *Hoppe Seylers Z. physiol. Chem.* **310**, 114 (1958). 2. Der rote Blutfarbstoff. Schmidt-Römhild, Lübeck 1962.
- Schwerd, W. und R. Stumpf: Spektrophotometrische Untersuchungen über Nitrit-Methämoglobin und Stickoxyd-Hämoglobin. *Blut* **7**, 341 (1961).

LEBENS LAUF

Am 13. Juli 1934 wurde ich, Egon Joachim HEINRICH, als erstes Kind des praktischen Arztes Artur Heinrich und seiner Ehefrau Lilly geb. Degel in Schwarzenbach (Wald)/Oberfr. geboren.

Von 1940 an besuchte ich die Volksschule in Schwarzenbach. Im Januar 1946 trat ich in die Oberrealschule Hof/Saale ein; vom September 1953 ab besuchte ich die Oberrealschule in Bayreuth und erhielt im Juli 1955 das Reifezeugnis dieser Schule.

Mein Medizinstudium begann ich im Sommersemester 1956 an an der Friedrich-Alexander-Universität zu Erlangen und legte hier im Oktober 1958 die ärztliche Vorprüfung ab. Im Sommersemester 1959 und im Wintersemester 1959/60 studierte ich an der Albert-Ludwigs-Universität zu Freiburg/Br. Dann kehrte ich nach Erlangen zurück, wo ich im August 1962 die ärztliche Prüfung ablegte.

